

**ПРОБЛЕМИ І ПЕРСПЕКТИВИ КАРІОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ЧЕРЕВОНОГИХ МОЛЮСКІВ
(GASTROPODA, PULMONATA)**

Проаналізовано найпоширеніші методики каріологічного дослідження молюсків. Намічено основні напрямки їх удосконалення.

Характеристики каріотипу тривалий час використовуються в систематиці різноманітних груп тварин поряд з морфологічними ознаками. У ряді випадків вони дозволяють диференціювати групи, що мало відрізняються за зовнішньою та внутрішньою морфологією.

У зв'язку з високою консервативністю каріотипів прісноводних пульмонат, каріологічні ознаки практично не використовувались в таксономічному аналізі цієї групи. Значною мірою використання каріотипу для потреб систематики обмежувалось низькою якістю каріологічного матеріалу, зумовленою методичними труднощами в їх отриманні.

До початку наших досліджень пропонувалось декілька методик приготування препаратів хромосом червононогих молюсків [1; 2; 3]. Однак більшість з них відзначались низькою продуктивністю, що не дозволяло проводити аналіз каріотипів на достатньому рівні.

Будь-яке каріологічне дослідження складається з двох етапів – приготування препаратів хромосом та їх подальший аналіз. Вивчення досвіду попередніх авторів та наші власні експерименти свідчать про те, що найбільш придатними для отримання каріологічних препаратів є тканини гермафродитної залози. У зв'язку з тим, що саме в цьому органі відбувається розвиток статевих клітин, на препаратах зустрічаються хромосоми на різних стадіях мейотичного циклу. Крім цього, наявність в стінках аценів гермафродитної залози клітин гермінативного епітелію, які інтенсивно діляться, дозволяє отримувати мітотичні метафазні пластинки.

Найбільш проблематичним в каріологічному дослідженні є перший етап, завдання якого полягає в отриманні достатньої кількості якісних метафазних пластинок. Цей етап здійснюється в декілька послідовних стадій. Спочатку на молюсків діють розчином колхіцину шляхом ін'єкції останнього або шляхом витримування тварин у цьому розчині. Використовують різні концентрації колхіцину (від 0,001 до 0,1%), у зв'язку з чим варіює і тривалість обробки. Однак нами встановлено, що тривалість цієї процедури залежить не лише від концентрації розчину колхіцину, але й від індивідуальних особливостей досліджуваних тварин. При однаковій концентрації колхіцину (0,002%) для видів підродів *Peregiana* та *Radix* ($2n=34$) роду *Lymnaea* найкращі результати досягаються при тривалості колхіцинування 17 годин. Для представників підродів, які характеризуються хромосомним числом $2n=36$, оптимальний час колхіцинування - 19 годин. Методику приготування каріологічних препаратів прісноводних пульмонат детально описано нами раніше [4]. Вона дозволяє отримати достатню для аналізу кількість мітотичних метафазних пластинок, хоча її продуктивність невисока (якісні метафазні пластинки присутні на 3% препаратів).

У каріології хребетних тварин для підвищення виходу якісних препаратів застосовують метагенні препарати (ФГА та ін.) [5]. У каріологічних дослідженнях молюсків цей прийом не використовується. Однак, за нашими попередніми даними, він є досить перспективним і здатний збільшити вихід якісних препаратів при меншій тривалості колхіцинування. Це важливо, оскільки тривала обробка колхіцином може викликати небажані хромосомні аберації. Значно підвищити продуктивність каріологічних досліджень дозволяють методи культивування тканин. Відомі спроби культивування тканин молюсків з цією метою [6], але вони не отримали подальшого розвитку.

Аналіз отриманих препаратів здійснюється за стандартною схемою. Визначається число хромосом, їх розміри, центромерний індекс, основне число, хромосомні формули та ін. Числові дані обробляються методами варіаційної статистики. Звичайно визначаються середні та їх похибки. В більшості випадків автори обмежуються простою констатацією отриманих результатів, не намагаючись їх всебічно аналізувати. На нашу думку, для інтерпретації каріологічних даних доцільно використовувати сучасні методи аналізу, реалізовані в комп'ютерних статистичних пакетах "STATISTICA", "NCSS and PASS" та ін. Вони дозволяють ґрунтовно і послідовно проаналізувати як кількісні, так і якісні змінні та зробити на основі аналізу коректні таксономічні висновки. Для виявлення достовірних відмінностей за окремими ознаками доцільно використовувати дисперсійний аналіз (він є надійнішим у порівнянні з класичним t-тестом). Значно розширюють можливості дослідника багатомірні методи аналізу даних. Кластерний аналіз дає можливість виділити з бази даних ряд груп на основі сукупності якісних та кількісних ознак. Недоліком цього методу є неможливість коректно встановити рівень відмінностей між виявленими групами. У ряді випадків це завдання успішно вирішується застосуванням методу дискримінантного аналізу. Для виявлення сукупності ознак, за якими досліджувані групи відрізняються найбільш достовірно, доцільно використовувати факторний аналіз. Крім цього, статистичні пакети пропонують ряд інших процедур, що можуть використовуватись в залежності від завдань дослідження.

Отже, найперспективнішими напрямками розвитку методики каріологічних досліджень молюсків є розробка методів культивування тканин із застосуванням метагенних препаратів, адаптація різноманітних методик дифе-

ренційованого забарвлення хромосом стосовно молюсків та використання сучасних методів статистичного аналізу для інтерпретації кариологічних даних.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Анбиндер Е.М. Кариология и эволюция ластоногих. – М.: Наука, 1980. – 151с.
2. Nacamura H.K. Chromosomes of *Archaeogastropoda* (Mollusca: Prosobranchia) with some remarks on their cytotaxonomy and phylogeny // Publ. Seto. Mar. Biol. Lab. – 1986. - №31. – P. 191-267.
3. Barsiene J., Tapia G., Barsite D. Chromosomes of mollusks inhabiting some mountain springs of eastern Spain // J. Moll. Stud. – 1996. - №62. – P.539-543.
4. Гарбар А.В. Описание кариотипов трёх видов рода *Lymnaea* (Gastropoda, Pulmonata, Lymnaeidae) фауны Украины // Вестн. зоол. Отд. вып.14. – 2000. – С.40-47.
5. Манило В.В. Кариотипы семейства гекконовые фауны СССР, их эволюция и использование как признака в таксономии и филогении / Автореф 03.00.08 Ин-т зоол. им. И.И. Шмальгаузена – К., 1988. – 27 с.
6. Burch J.B. A Tissue culture Technique for caryotype Analyses of Pulmonate Land Snails // Venus. – 1968. – V.27. - №1. – P. 20-26.

Матеріал надійшов до редакції 02.08.01.

Гарбар Д.А., Гарбар О.В. Проблемы и перспективы кариологических исследований брюхоногих моллюсков (Gastropoda, Pulmonata).

Проанализированы наиболее распространённые методики кариологических исследований моллюсков. Намечены основные направления их усовершенствования.

Garbar D.A., Garbar O.V. The problems and the perspectives of cariological investigations of snails (Gastropoda, Pulmonata).

The most widespread methods of caryological investigation of snails are analyzed. The main ways, which will promote their improvement are determined.